

クロマチン免疫沈降法(ChIP)は、転写因子などのタンパク質と DNA の相互作用を研究する優れた手法であるが、特異性と親和性が高い抗体が必要とされる。しかし、すべてのタンパク質に対してこのような高品質の抗体を準備することは難しい。ChIP を効率よく行う為に、転写因子にタグ配列を付加する手段が用いられることがあるが、現在使用できるタグ配列は限られている。そこで、本実験では Ty1 タグを多量体化することにより、ChIP が効率よく行えるようになるかを検討した。

まず GST に Ty1 タグを 1~3 個付け、抗体によりどのように認識されるのかを Western blotting により調べた。3 量体(Ty1×3)の場合、1 量体に比べて親和性が著しく高くなっていることが分かった。次に Ty1×3 タグを付加した Sox3 の mRNA をゼブラフィッシュ胚にインジェクションした。この胚を用いて、抗 Ty1 抗体により ChIP を行った。免疫沈降された DNA を用いて qPCR を行い、Sox3 のターゲット配列の回収率を調べたところ、複数の Sox3 ターゲット配列が効率よく回収されることが分かった。従って Ty1×3 タグは ChIP に適した抗体であると考えられる。